

## 断奶日龄对湖羊羔羊瘤胃内微生物多样性的影响

马万浩<sup>1</sup> 张 宁<sup>1,2</sup> 李 飞<sup>1\*</sup> 李发弟<sup>1,3</sup>

(1.兰州大学草地农业科技学院, 草地农业生态系统国家重点实验室, 兰州 730020; 2.新希望六和股份有限公司, 北京 100102; 3.甘肃省肉羊繁育生物技术工程实验室, 民勤 733300)

摘 要: 本试验旨在研究断奶日龄对湖羊羔羊瘤胃微生物多样性的影响。选择 66 只湖羊公羔, 在羔羊 1、14、28 日龄各屠宰 6 只羔羊, 剩余 48 只羔羊随机分为 2 组, 分别于 28 和 56 日龄断奶, 在 42、56、70 和 84 日龄每组屠宰 6 只羔羊, 取瘤胃内容物样品。所有羔羊 7 日龄开始饲喂开食料。试验期为羔羊 1~84 日龄。结果表明: 断奶日龄对白色瘤胃球菌

(*Ruminococcus albus*)、黄色瘤胃球菌(*Ruminococcus flavefaciens*)、牛链球菌(*Streptococcus bovis*)、产琥珀酸丝状杆菌(*Fibrobacter succinogenes*)和布氏密螺旋体(*Treponema bryantii*)的相对丰度无显著影响( $P>0.05$ )。随着日龄增加, 羔羊瘤胃微生物多样性不断增加, 28 日龄断奶的羔羊相对 56 日龄断奶的羔羊其瘤胃微生物多样性提高。结果提示, 瘤胃微生物多样性受日龄和断奶日龄的影响, 早期断奶可加速瘤胃微生物区系的建立。

关键词: 湖羊; 断奶日龄; 微生物多样性

中图分类号: S826

反刍动物的瘤胃是一个复杂的生态系统, 其内生存着大量的微生物。根据微生物的分布形态, 可分为液相、固相和固液混合相。而微生物中起主要消化分解作用的是细菌, 主要可分为纤维素降解菌、淀粉降解菌、半纤维素降解菌、脂肪降解菌、乳酸利用菌和乳酸产生菌等<sup>[1]</sup>。

瘤胃微生物区系可受到自身采食的饲料影响<sup>[2-3]</sup>。不同的断奶和补饲时间可以使反刍动物营养物质的摄入发生改变, 影响瘤胃微生物区系和瘤胃组织的发育, 进而影响饲料利用率<sup>[4-5]</sup>。另外, 羔羊随着日龄的增长, 饲料采食量会发生改变, 大量的外界微生物也会植入到瘤胃中, 使瘤胃内的微生物区系日渐丰富。能够降解利用纤维素是羔羊反刍功能形成的标志之一, 这与瘤胃内纤维素降解菌的定殖有关, 因此本试验选用白色瘤胃球菌、黄色瘤胃球菌、

收稿日期: 2018-01-26

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0500502); 甘肃省科技重大专项(1602NKDH020-03)

作者简介: 马万浩(1993—), 男, 甘肃嘉峪关人, 硕士研究生, 动物营养与饲料科学专业。E-mail: 452515472@qq.com

\*通信作者: 李 飞, 副教授, 硕士生导师, E-mail: lfei@lzu.edu.cn

产琥珀酸丝状杆菌、溶纤维丁酸弧菌等几种主要的纤维素降解菌和 1 种半纤维素降解菌布氏密螺旋体作为检测瘤胃内微生物动态变化的研究对象,另外鉴于饲料所含淀粉对羔羊生长发育的重要性,本试验所研究的细菌还包括 1 种重要的淀粉降解菌牛链球菌。变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术具有可靠性强,重现性高,方便快捷等优点<sup>[6]</sup>,被广泛应用于微生物群落多样性分析中。本研究通过实时定量 PCR 和变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术,研究断奶日龄对羔羊瘤胃内微生物多样性的影响,同时检测初生到 84 日龄羔羊瘤胃内微生物的动态变化,为明确断奶日龄对羔羊瘤胃微生物区系的影响提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物与设计

选取体重 $[3.51\pm0.57]$  kg接近、健康状况良好的 66 只湖羊公羔,在 1、14 和 28 日龄各屠宰 6 只羊。剩余的 48 只按照体重相近原则随机分为 28 日龄断奶组和 56 日龄断奶组。所有试验动物从出生后 7 日龄饲喂开食料,59 日龄换生长羔羊颗粒料,换料过渡期为 10 d。28 日龄断奶组和 56 日龄断奶组在 42、56、70、84 日龄分别屠宰 6 只。试验中所用湖羊羔羊均购于甘肃省金昌中天羊业有限公司。试验期为羔羊 1~84 日龄。

### 1.2 样品采集

动物屠宰打开瘤胃后,取出瘤胃内容物用匀浆机混匀,所有内容物过 4 层纱布得到瘤胃液,然后将瘤胃液装入冻存管,放入装有液氮的液氮罐中保存,带回实验室后将样品置于-80 °C 保存。

### 1.3 PCR 分析

微生物总 DNA 的提取采用动物粪便基因组 DNA 提取试剂盒(Stool DNA Kit 50, OMEGA, 美国),提取按照说明书方法进行。所用引物参考 Firkins 等<sup>[7]</sup>、Khafipour 等<sup>[8]</sup>和 Ley 等<sup>[9]</sup>,由上海生工生物工程股份有限公司合成,引物序列见表 1。

实时定量 RCR 的操作仪器为 Bio-Rad CFX 96 型实时定量 PCR 检测系统(BioRad,美国)。以 SYBR Premix Ex Taq™ 试剂(北京全式金生物技术有限责任公司)建立 20 μL 反应体系,包括 SYBR Green I 型荧光染料 10 μL、上游和下游引物各 0.4 μL、总 DNA 模板 2 μL 及双蒸去离子水 7.2 μL。反应条件为:95 °C 预变性 10 min;95 °C 变性 15 s,退火温度下退火 30 s,72 °C 延伸 30 s 并采集荧光信号,共 40 个循环。按仪器操作说明选择熔解曲线进行后续分

析。

瘤胃微生物 16S rDNA V3 区的 PCR 扩增：PCR 扩增体系（50 μL）：2 μL 总 DNA 模板（约 100 ng）；GC-338f 和 533r 引物各 0.6 μL；5 μL buffer，4 μL dNTP，0.8 μL Taq 聚合酶（TIANGEN Taq Polymerase）；37 μL 双蒸去离子水。

GC-338f 引物序列：5'-CGCCCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGGC  
GGGGGCACGGGGGGACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'(下划线部分为 GC 夹子);533r 引物序列：5'-TTACCGCGGCTGCTGGCAC-3'。

PCR 扩增程序如下：94 °C 5 min; 94 °C 30 s,60 °C 20 s，每个循环降低 0.5 °C，72 °C 30 s，10 个循环；94 °C 30 s，65 °C 30 s，72 °C 30 s，25 个循环；72 °C 30 s。

表1 实时定量PCR引物参数

Table 1 Parameters of primers for real-time PCR		
项目 Items	序列 Sequences (5' -3' )	退火温度 Annealing temperature/ °C
总细菌 General bacteria	上游：CGGCAACGAGCGCAACCC 下游：CCATTGTAGCACGTGTGTAGCC	53~58
产琥珀酸丝状杆菌 <i>Fibrobacter succinogenes</i>	上游：GTTCGGAATTACTGGGCGTAAA 下游：CGCCTGCCCCCTGAACTATC	55
黄色瘤胃球菌 <i>Ruminococcus flavefaciens</i>	上游：CGAACGGAGATAATTTGAGTTTACTTAGG 下游：CGGTCTCTGTATGTTATGAGGTATTACC	53
白色瘤胃球菌 <i>Ruminococcus albus</i>	上游：CCCTAAAAGCAGTCTTAGTTTCG 下游：CCTCCTTGCGGTTAGAACA	57
牛链球菌 <i>Streptococcus bovis</i>	上游：TTCCTAGAGATAGGAAGTTTCTTCGG 下游：ATGATGGCAACTAACAATAGGGGT	55
布氏密螺旋体 <i>Treponema bryantii</i>	上游：GAGAAACGCTTTGTGGTGACTGT 下游：CCTACATGCCCTTTACGCTCAAT	58
溶纤维丁酸弧菌 <i>Butyrivibrio Fibrisolvens</i>	上游：GCCTCAGCGTCAGTAATCG 下游：GGAGCGTAGGCGGTTTTAC	57

依据下列公式计算目标微生物相对丰度：

微生物相对丰度(%)=2<sup>-(Ct<sub>目标菌</sub>-Ct<sub>总细菌</sub>)</sup>。

式中：Ct<sub>目标菌</sub>为以目标菌引物扩增后所测循环阈值,Ct<sub>总细菌</sub>为以总细菌引物扩增后所测循环阈值。

1.3 DGGE 分析

DGGE 分析参照张宁<sup>[10]</sup>的方法。

1.4 聚类分析

70 UPGAMA 聚类分析参照周奕毅<sup>[11]</sup>的方法。

71 1.5 数据分析

72 DGGE 图谱通过 Quantity-One (Bio-Rad) 软件处理比较每个泳道样品间的相似性，并  
73 进行 UPGAMA 聚类分析<sup>[11]</sup>，另外用该软件分析 DGGE 图谱得到 Shannon-Wiener 多样性指数。  
74 数据采用 SPSS 23.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)，显著水平为  $P<0.05$ 。

75 2 结果与分析

76 利用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测总 DNA 提取效果，经过分析凝胶成像系统成像图，本  
77 试验所用微生物总 DNA 提取成功。用提取的微生物总 DNA 作为模板进行 PCR 扩增，成功  
78 扩增出 16S rDNA V3 区片段 (图 1)。

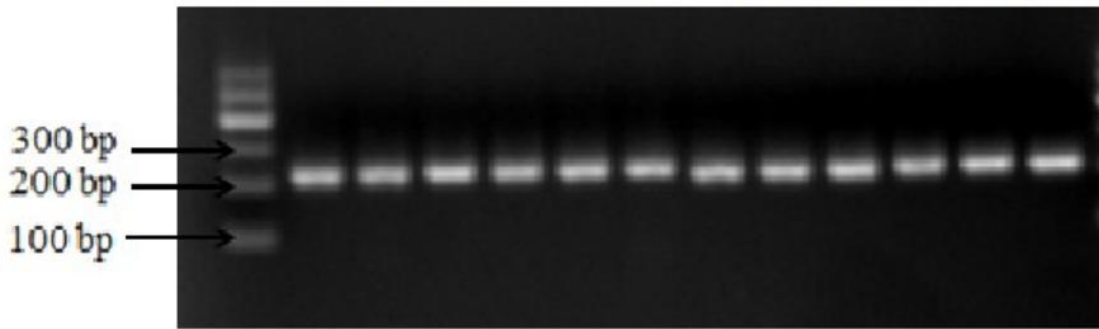
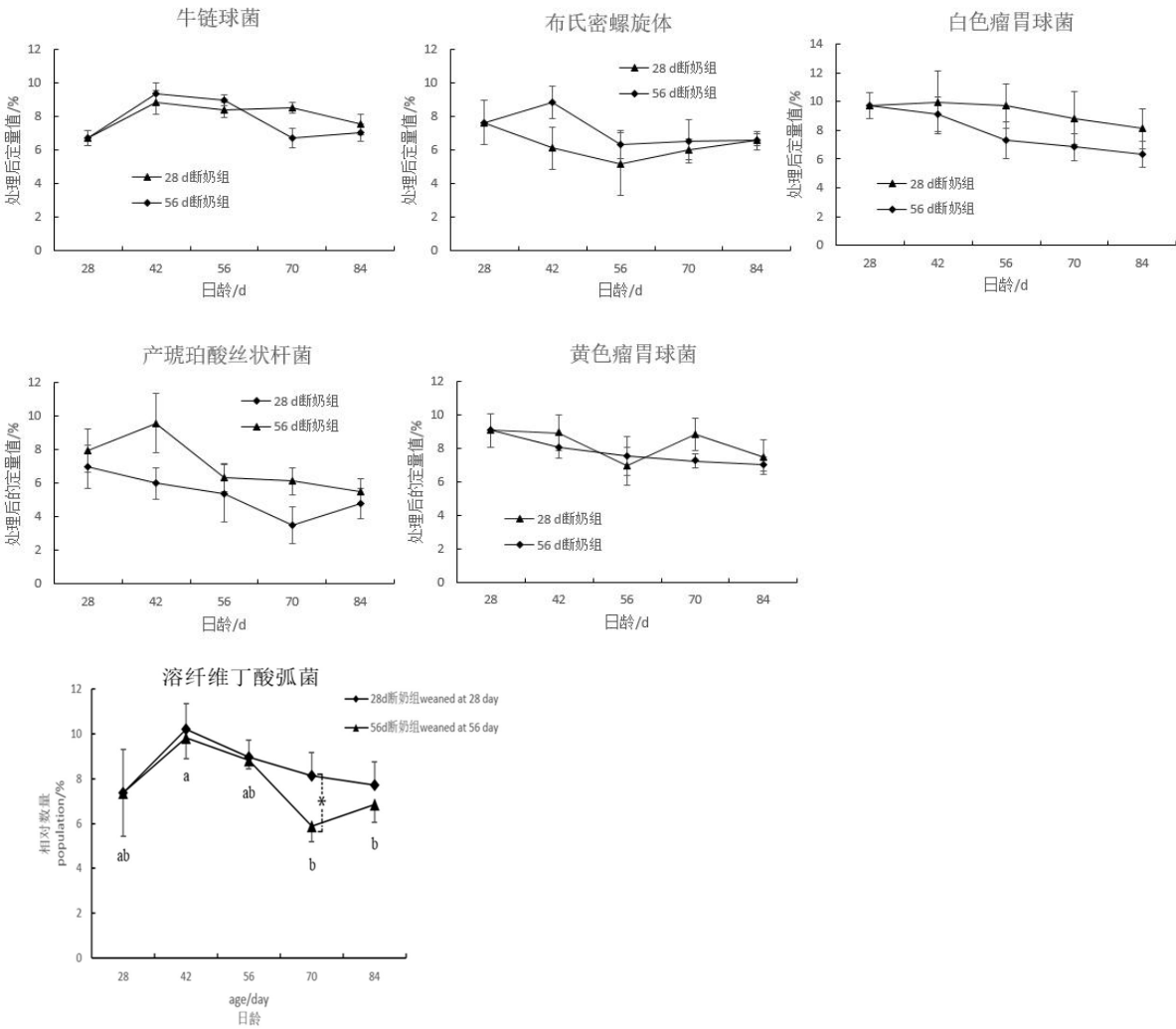


图 1 16S rDNA V3 区 PCR 扩增

Fig.1 PCR amplification of 16S rDNA V3 region

82 断奶日龄对瘤胃内白色瘤胃球菌、黄色瘤胃球菌、牛链球菌、产琥珀酸丝状杆菌和布氏  
83 密螺旋体相对丰度的影响见图 2。断奶日龄对白色瘤胃球菌、黄色瘤胃球菌、牛链球菌、产  
84 琥珀酸丝状杆菌和布氏密螺旋体的相对丰度无显著影响 ( $P>0.05$ )。28 日龄断奶组瘤胃内  
85 溶纤维丁酸弧菌相对丰度呈现 28 日龄较低，42 日龄达到最高，之后逐渐下降的趋势。56  
86 日龄断奶组瘤胃内溶纤维丁酸弧菌相对丰度呈现 28 日龄较低，42 日龄达到最高，之后下降，  
87 在 70 日龄达最低，84 日龄略升高的趋势；42 日龄显著高于 70 和 84 日龄 ( $P<0.05$ )，其他  
88 日龄之间无显著差异 ( $P>0.05$ )。70 日龄时，28 日龄断奶组瘤胃内溶纤维丁酸弧菌相对丰度  
89 显著高于 56 日龄断奶组 ( $P<0.05$ )。



90

91

92 同组数据点标注不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ); 同一时间点数据标注\*表示差异显著( $P<0.05$ )。

93 Data points of the same group with different small letters mean significant difference ( $P<0.05$ ); data points of

94 the same time point with \* mean significant difference ( $P<0.05$ ).

95 图2 28和56日龄断奶羔羊瘤胃纤维分解菌的相对丰度

96 Fig.2 Relative abundance of cellulolytic bacteria in rumen of lambs weaned at 28 and 56 days of age

97 本文 DGGE 图谱 (图 3、图 4) 和聚类分析图谱 (图 5) 仅展示部分样品。28 和 56

98 日龄断奶羔羊瘤胃微生物 DGGE 图谱见图 3。羔羊 1~84 日龄瘤胃内微生物 DGGE 图谱

99 见图 4, 对 1~84 日龄瘤胃内微生物 DGGE 图谱进行聚类分析, 结果见图 5, 可知随着日

100 龄的增长, 同一时间点的不同羔羊间的相似度逐渐升高, 波动最大的为 1~14 日龄和 56~70

101 日龄这 2 个时间段。

102

103

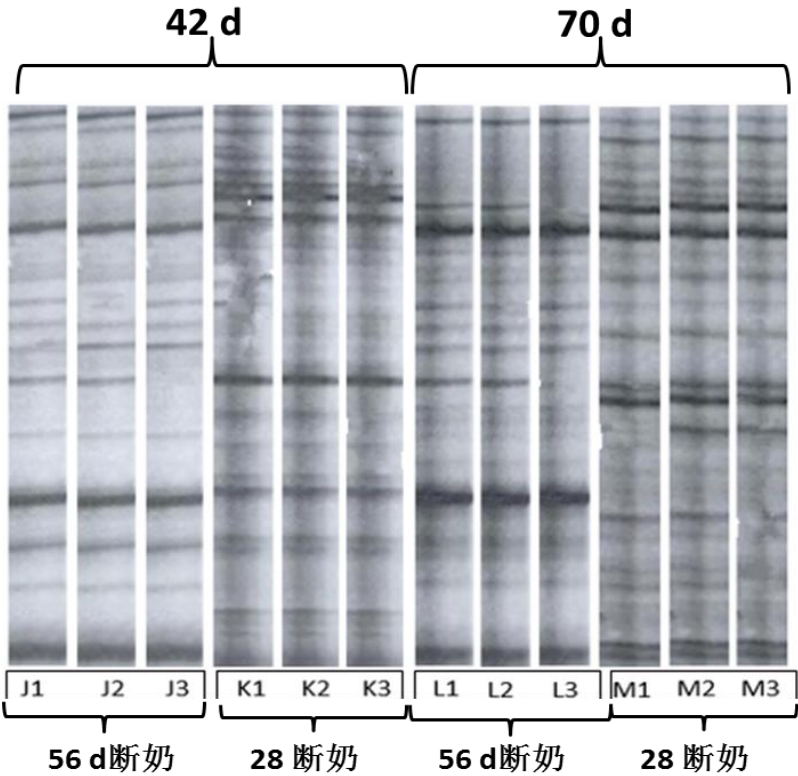


图3 28和56日龄断奶羔羊瘤胃微生物DGGE图谱

Fig.3 DGGE profiles of ruminal microbe of lambs weaned at 28 and 56 days of age

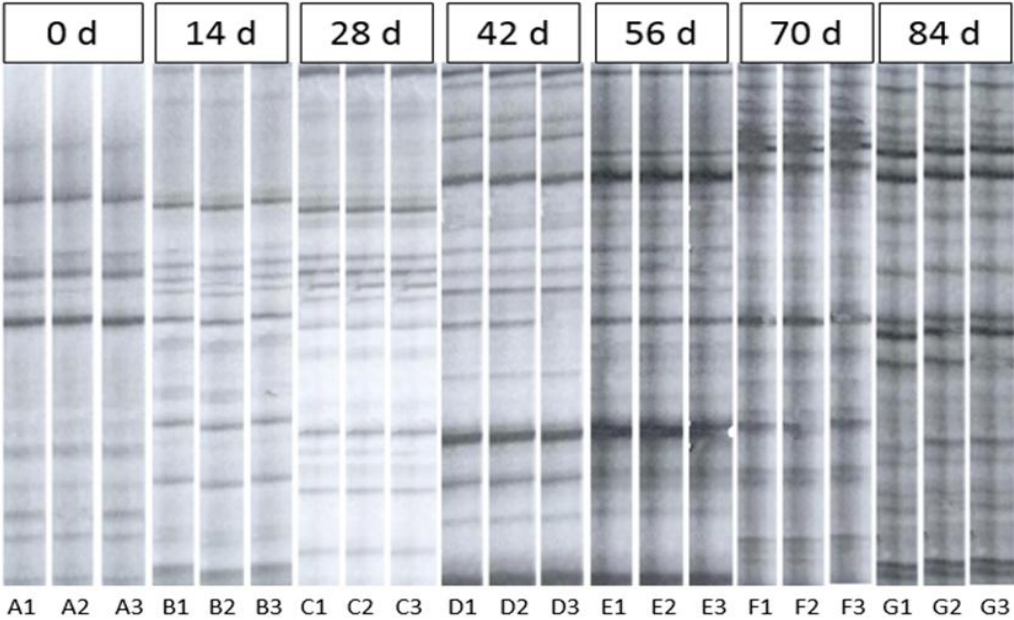


图4 羔羊1~84日龄瘤胃内微生物DGGE图谱

Fig.4 DGGE profiles of ruminal microbe of lambs at 1 to 84 days of age

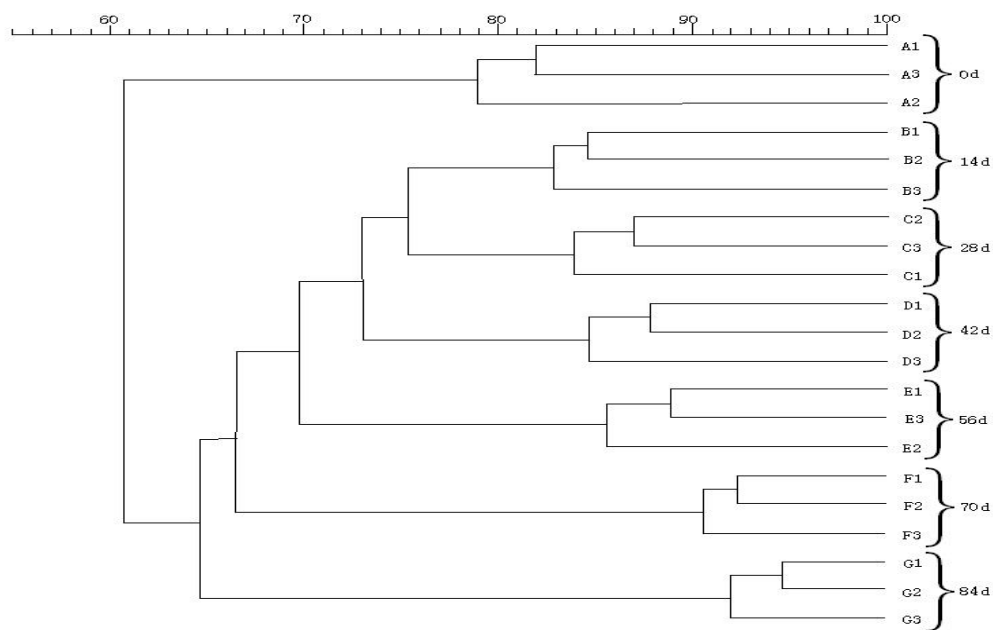


图 5 羔羊 1~84 日龄瘤胃内微生物聚类分析图谱

Fig.5 Cluster analysis map of ruminal microbe of lambs at 1 to 84 days of age

根据 DGGE 图谱计算出多样性指数，结果见表 2。结果显示，在 42 日龄时 28 日龄断奶组多样性指数显著高于 56 日龄断奶组 ( $P<0.05$ )，在 70 日龄时 28 日龄断奶组和 56 日龄断奶组无显著性差异 ( $P>0.05$ )。从瘤胃内整个微生物区系的发育角度来看，70 和 84 日龄的多样性指数显著高于所有其他日龄 ( $P<0.05$ )，1 日龄显著低于所有其他日龄 ( $P<0.05$ )，其他日龄间均无显著性差异 ( $P>0.05$ )。

表 2 羔羊瘤胃微生物多样性指数

Table 2 The diversity index of ruminal microbe of lambs

试验设计 Test design	日龄 Days of age	组别 Groups	Shannon-Wiener 多样性指数 Shannon-Wiener diversity index
不同断奶日龄 Different weaning days of age	42	28 日龄断奶 Weaned at 28 days of age	1.57 <sup>a</sup>
		56 日龄断奶 Weaned at 56 days of age	1.31 <sup>b</sup>
	70	28 日龄断奶 Weaned at 28 days of age	1.72
		56 日龄断奶 Weaned at 56 days of age	1.77
不同日龄 Different days of age	1		0.83 <sup>c</sup>
	14		1.29 <sup>b</sup>
	28		1.31 <sup>b</sup>
	42		1.36 <sup>b</sup>
	56		1.57 <sup>b</sup>
	70		1.79 <sup>a</sup>
	84		1.81 <sup>a</sup>

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

Values in the same row with different small letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ).

### 3 讨 论

本试验中, 70日龄时28日龄断奶组羔羊瘤胃内容纤维丁酸弧菌的相对丰度显著高于56日龄断奶组, 56日龄断奶组日龄的变化引起瘤胃内容纤维丁酸弧菌的相对丰度出现差异。Jami等<sup>[12]</sup>通过实时定量PCR的方法检测犊牛从出生到成年瘤胃内细菌数量的变化, 发现犊牛断奶后瘤胃内容纤维丁酸弧菌的数量下降。本课题组的另一项研究显示, 56日龄断奶组在断奶后采食量升高 (569.03 g/d vs. 333.83 g/d) <sup>[13]</sup>, 28日龄断奶组与56日龄断奶组瘤胃内容纤维丁酸弧菌在70日龄所产生的差异可能是由于采食量的升高导致瘤胃内pH降低, 不利于溶纤维丁酸弧菌生长。

柴建民<sup>[14]</sup>通过研究10、20、30日龄3个早期断奶处理的羔羊发现, 跟60日龄断奶相比较, 早期断奶羔羊瘤胃内微生物的Shannon指数和Simpson指数与对照组差异显著, 说明断奶对瘤胃中微生物区系具有很大的影响, 韩旭峰<sup>[15]</sup>采用精粗比分别为30:70、50:50、70:30的3种饲料喂陕北白绒山羊发现, 随着饲料精粗比的升高, 几种不同功能的瘤胃细菌出现了变化, 纤维降解菌的含量呈显著减少的趋势。Jami等<sup>[12]</sup>检测了以色列荷斯坦牛从出生到24月龄的5个不同月龄阶段的瘤胃微生物, 发现随着年龄的增长, 牛瘤胃微生物的多样性和数量呈现出了显著变化。

42日龄时28日龄断奶组与56日龄断奶组条带数目和颜色深度出现差异且明显, 这由于28日龄断奶组断奶后加大了开食料的采食量, 因为不同饲料颗粒上附着的微生物群落数量基本相同<sup>[16]</sup>, 所以开食料的采食加快了瘤胃内微生物的植入速度。70日龄时56日龄断奶组条带数目和颜色深度均高于28日龄断奶组, 56日龄断奶组断奶后开食料采食量会增加, 会导致瘤胃微生物植入的速度明显加快。Chen<sup>[17]</sup>研究发现, 当犊牛饲料转变为淀粉水平相对较高的高谷物饲料时, 犊牛瘤胃微生物菌群组成的多样性降低; 另外, 根据Khafipour等<sup>[8]</sup>、Tajima等<sup>[18]</sup>和张红涛<sup>[19]</sup>的研究, 饲料中性洗涤纤维 (NDF) 水平的升高使得瘤胃微生物区系的物种丰富度和多样性均增高, 本文在将开食料改变为生长羔羊颗粒料时, 淀粉水平由38.81%降低为28.93%, NDF水平由18%升高至22%, 这种饲料营养成分的转变也可能是56日龄断奶组微生物种类、数量较大的原因。

随着日龄的增长,羔羊固体料的采食量会随之增长,固体料采食的增长会引起瘤胃内微生物区系产生变化<sup>[20]</sup>。14日龄的DGGE图谱条带数目和颜色深度明显高于7日龄。这是由于在7日龄对羔羊进行了补饲,虽然日龄较小的羔羊对固体开食料采食量并不大,但是通过舔舐固体料可以让微生物植入瘤胃<sup>[21]</sup>。70日龄的DGGE图谱条带数目高于56日龄,鉴于56~70日龄羔羊瘤胃内总挥发性脂肪酸的含量显著升高(102.31 mmol/L vs. 96.72 mmol/L),而瘤胃内pH也呈增高趋势<sup>[22]</sup>,这说明在将开食料更换为生长羔羊料后,瘤胃微生物群落的活动使得饲料在瘤胃中迅速发酵,而发酵底物的增多则有利于微生物增殖,同样的,相对较高的pH也有利于纤维降解菌的增殖,因此这种现象可能是由断奶后开食料采食量增加以及固体饲料的成分的转变共同引起的。

Bomba等<sup>[23]</sup>通过对比7周龄断奶与9周龄断奶犊牛瘤胃内微生物发育状况,发现通过早期补饲开食料7周龄犊牛瘤胃内微生物发育与9周龄犊牛差异不大。在本研究中也是在28日龄断奶的情况下采取了早期补饲的措施,因此我们的研究结果与Bomba等<sup>[23]</sup>一致。Yáñez-Ruiz等<sup>[24]</sup>研究表明,刚出生的反刍动物瘤胃内含有极少数的微生物甚至不含有微生物,随着与外界接触微生物逐渐植入到瘤胃中。本试验中随着日龄的增长,组内相似度逐渐升高,这与Rey等<sup>[25]</sup>的研究结果一致。随着日龄的增长,反刍动物瘤胃内的微生物区系逐渐趋于稳定状态,达到一种动态的平衡,说明随饲料植入的微生物对瘤胃内微生物区系的影响已逐渐变小。从1~84日龄组内相似度逐渐升高的趋势下,波动最大的为1~14日龄和56~70日龄这2个时间段。本研究在7日龄对羔羊补饲开食料以及在56日龄进行了断奶,这2个处理改变了羔羊饲料营养物质摄入组成,因此引起了瘤胃内微生物区系的变化。

Bomba等<sup>[23]</sup>研究发现,犊牛断奶后瘤胃内微生物多样性指数呈显著性升高。本试验中,28日龄断奶组在42日龄时已经断奶,而56日龄断奶组在42日龄时仍未断奶,造成了在42日龄时28日龄断奶组多样性指数显著高于56日龄断奶组。从结果中可以得出,7日龄补饲和56日龄断奶对瘤胃内的微生物区系影响较大。Jami等<sup>[12]</sup>研究发现,改变反刍动物的饲料营养物质组成可以直接影响瘤胃内微生物区系的组成。本研究补饲与断奶的处理间接改变了动物饲料营养结构组成。

#### 4 结 论

①在7日龄开始饲喂开食料条件下,28日龄断奶的羔羊瘤胃微生物多样性在42日龄时较

174 56日龄断奶的羔羊丰富。

175 ②羔羊瘤胃内微生物多样性随着日龄的增长逐渐丰富,14日龄(7日龄开始补饲开食料)

176 较1日龄显著增加,70日龄较断奶(56日龄)前显著增加。

177 参考文献:

178 [1] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:科学出版社,2006.

179 [2] 淡瑞芳,张海涛,龙瑞军,等.瘤胃微生物生态研究方法评述[J].草业科学,2007,24(7):77-82.

180 [3] DE FILIPPO C,CAVALIERI D,DI PAOLA M,et al.Impact of diet in shaping gut microbiota  
181 revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa[J].Proceedings of The  
182 National Academy of Sciences of the United States of America,2010,107(33):14691-14696.

183 [4] 陈昊,刘婷,吴建平,等.牛至精油对新生犊牛生长发育和血液免疫的影响[J].草业科  
184 学,2017,34(10):2141-2148.

185 [5] 罗愆,柴林荣,常生华,等.我国青藏高原地区牦牛草地放牧系统管理及优化[J].草业科  
186 学,2017,34(4):881-891.

187 [6] 宫曼丽,任南琪,邢德峰.DGGE/TGGE技术及其在微生物分子生态学中的应用[J].微生物  
188 学报,2004,44(6):845-848.

189 [7] FIRKINS J L,YU Z.Ruminant nutrition symposium:how to use data on the rumen  
190 microbiome to improve our understanding of ruminant nutrition[J].Journal of Animal  
191 Science,2015,93(6):1450-1470.

192 [8] KHAFIPOUR E,LI S C,PLAIZIER J C,et al.Rumen microbiome composition determined  
193 using two nutritional models of subacute ruminal acidosis[J].Applied and Environmental  
194 Microbiology,2009,75(22):7115-7124.

195 [9] LEY R E,HAMADY M,LOZUPONE C,et al.Evolution of mammals and their gut  
196 microbes[J].Science,2008,320(5883):1647-1649.

197 [10] 张宁.断奶和补饲时间对湖羊羔羊肌肉脂肪酸和瘤胃微生物多样性的影响[D].硕士学位  
198 论文.兰州:兰州大学,2016.

199 [11] 周奕毅.茶皂素抑制湖羊甲烷生成的微生物学机制研究[D].硕士学位论文.杭州:浙江大  
200 学,2009.

- 201 [12] JAMI E,ISRAEL A,KOTSER A,et al.Exploring the bovine rumen bacterial community  
202 from birth to adulthood[J].The ISME Journal,2013,7(6):1069–1079.
- 203 [13] 马志远.早期断奶对湖羊羔羊生产性能及胃肠道发育的影响[D].硕士学位论文.兰州: 兰  
204 州大学,2015.
- 205 [14] 柴建民.断母乳日龄对羔羊生长性能与胃肠道发育的影响[D].硕士学位论文.北京:中国  
206 农业科学院,2015.
- 207 [15] 韩旭峰.日龄、日粮精粗比对陕北白绒山羊瘤胃微生物区系影响的研究[D].博士学位论  
208 文.杨凌:西北农林科技大学,2015.
- 209 [16] MARTIN C,MICHALET-DOREAU B.Variations in mass and enzyme activity of rumen  
210 microorganisms:effect of barley and buffer supplements[J].Journal of The Science of Food and  
211 Agriculture,1995,67(3):407–413.
- 212 [17] CHEN Y H.Changes in ruminal bacterial communities of beef cattle during high  
213 concentrated diet transition and experimental induced subacute acidosis[D].Master's  
214 Thesis.Edmonton:University of Alberta,2011.
- 215 [18] TAJIMA K,AMINOV R I,NAGAMINE T,et al.Diet-dependent shifts in the bacterial  
216 population of the rumen revealed with real-time PCR[J].Applied and Environmental  
217 Microbiology,2001,67(6):2766–2774.
- 218 [19] 张红涛.不同玉米青贮水平对荷斯坦后备牛瘤胃液微生物组及其代谢组的影响[D].博士  
219 学位论文.北京:中国农业大学,2017.
- 220 [20] KHAN M A,BACH A,WEARY D M,et al.Invited review:transitioning from milk to solid  
221 feed in dairy heifers[J].Journal of Dairy Science,2016,99(2):885–902.
- 222 [21] EL-SHAZLY K,HUNGATE R E.Fermentation capacity as a measure of net growth of  
223 rumen microorganisms[J].Applied Microbiology,1965,13:62–93.
- 224 [22] LIU T,LI F D,WANG W M,et al.Effects of lamb early starter feeding on the expression of  
225 genes involved in volatile fatty acid transport and pH regulation in rumen tissue[J].Animal Feed  
226 Science and Technology,2016,217:27–35.
- 227 [23] BOMBA A,KMET V,KONIAROVÁ I,et al.Production of volatile fatty acids in the rumen

of calves during dietary-microbial stimulation and early weaning[J].*Veterinární Medicina*,1989,34(3):141–148.

[24] YÁÑEZ-RUIZ D R,ABECIA L,NEWBOLD C J.Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life:a review[J].*Frontiers in Microbiology*,2015,34:1133.

[25] REY M,ENJALBERT F,COMBES S,et al.Establishment of ruminal bacterial community in dairy calves from birth to weaning is sequential[J].*Journal of Applied Microbiology*,2014,116(2):245–257.

# Effects of Weaning Days of Age on Ruminal Microbial Diversity in *Hu* Lambs

MA Wanhao<sup>1</sup> ZHANG Ning<sup>1,2</sup> LI Fei<sup>1\*</sup> LI Fadi<sup>1,3</sup>

(1. *Key Laboratory of Grassland Farming Systems, College of Pastoral Agriculture Science and Technology , Lanzhou University, Lanzhou 730020, China*; 2. *New Hope Liuhe Group Co. , Ltd. , Beijing 100102, China*; 3. *Biotechnology Engineering Laboratory of Gansu Meat Sheep Breeding, Minqin 733300, China*)

**Abstract:** The aim of the present study was to evaluated the weaning days of age on ruminal microbial diversity in *Hu* lambs. Sixty-six male *Hu* lambs were selected, and six lambs were slaughtered at each sample time (1, 14 and 28 days of age, respectively). The rest 48 lambs were divided into two groups weaned at 28 and 56 days of age, respectively. Lambs were slaughtered at 42, 56, 70 and 84 days of age (6 lambs per group at each sample time), respectively, to collect ruminal content. All lambs were fed starter since 7 d of age. The experiment period was from 1 to 84 days of age. The results showed as follow: weaning days of age had no significant effects on the relative abundance of *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Streptococcus bovis*, *Fibrobacter succinogenes* and *Treponema bryantii*. With the increase of days of age, ruminal microbial diversity of lambs continuously increased; compared with lambs weaned at 56 days of age, lambs weaned at 28 day of age had higher microbial diversity. The results indicate that the microbial diversity are affected by days of age and weaning days of age, and early weaning can

\* Corresponding author,: associate professor , E-mail: [lfei@lzu.edu.cn](mailto:lfei@lzu.edu.cn)

(责任编辑 王智航)

254 accelerate establishment of ruminal microflora.

255 Key words: *Hu* lambs; weaning days of age; microbial diversity